



TITLE:

神経系構築過程で発現するカドヘリンに関する研究(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

井上, 高良

CITATION:

井上, 高良. 神経系構築過程で発現するカドヘリンに関する研究. 京都大学, 1997, 博士(理学)

ISSUE DATE:

1997-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/202464>

RIGHT:

氏 名	いの うえ たか よし 井 上 高 良
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 1840 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	神 經 系 構 築 過 程 で 発 現 する カド ヘ リ ン に 関 する 研 究

論文調査委員	(主 査) 教 授 竹 市 雅 俊	教 授 山 森 哲 雄	教 授 永 田 和 宏
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

細胞間接着分子カドヘリンは、細胞に選択的接着能を与え、形態形成過程に対応してダイナミックな発現様式を示すことから、発生の重要な制御因子であると考えられている。神経系においても幾つかのカドヘリンサブクラスの発現が知られており、複雑かつ精妙な神経組織の構築にカドヘリンが関与していることが期待されている。しかしながら神経細胞が互いに配線されるなど、細胞の選択的接着性がとりわけ重要となる発生後期については、発現するカドヘリンに関する報告がほとんどなかった。そこで申請者は、神経発生後期に発現するカドヘリンサブクラスの同定を試みた。方法として、カドヘリンサブクラス間で保存された領域の塩基配列に対するプライマーにより、マウス新生児脳、および、*in vitro* で神経分化する細胞株 NG108-15 から調製した cDNA を鋳型として polymerase chain reaction (PCR) を行い、得られた PCR 断片の一つが、神経分化後の NG108-15 細胞株からより多く増幅されることを見出している。そしてこの cDNA の全長クローニングに成功するとともに、これが、ヒトやラットで cDNA の部分断片のみが報告されていて発現様式や機能が未知であったカドヘリン 6 のマウスの相同分子であることを明らかにしている。

つぎに申請者は、ノザン法による解析により、このカドヘリンが発生後期脳および神経分化後の NG105-15 細胞株において発現していることを確認した後、*in situ* ハイブリダイゼーション法により、さらに詳細にその発現様式を解析している。その結果、カドヘリン 6 がマウス初期胚中枢神経系において、特定の rhombomere 等のコンパートメントに対応した発現様式を示すとともに、発生後期脳においては特定の神経核や大脳皮質領野、あるいはそれらの形成過程に対応して発現していることを新たに見出している。中でも、興味深いことに、聴覚系を構成する神経核および大脳皮質聴覚野の神経細胞はすべてカドヘリン 6 陽性であることを指摘している。

一方、末梢神経系においては、神経冠細胞の前駆体および移動する神経冠細胞、そして神経冠細胞由来の一部であるシュワン細胞など、いままでカドヘリンの発現が知られていなかった領域においても、カド

ヘリン6の発現があることを報告している。以上のように、カドヘリン6が、神経構築過程で細胞の接着性の変化が重要となる局面に対応して発現することを明らかにするとともに、これを基に、選択的接着能をもつカドヘリンが、神経系構築のさまざまな局面で中心的な役割を果たしている可能性について論じている。

さらに申請者は、カドヘリン6と似た発現様式を示す幾つかの転写因子や液性因子の突然変異マウスについてカドヘリン6の発現様式を検証し、Hoxa-1突然変異マウスで、本来Hoxa-1が発現している時間に一致して rhombomere-4(r4) および rhombomere-6(r6) におけるカドヘリン6の発現が消失していることを見出している。このことからカドヘリン6がr4およびr6においてHoxa-1遺伝子の下流で制御されている可能性を新たに示唆している。

論文審査の結果の要旨

脊椎動物の神経系構築過程には、選択的シナプスの形成など、細胞の接着性の制御が重要となる局面が数多く存在している。申請者は、このような過程において、接着分子カドヘリンが積極的に関与しているに違いないと考え、神経発生後期で発現するカドヘリンの同定をPCR法より試みた。ここで申請者は、脳組織由来のcDNAのみならず、試験管内で神経分化する培養細胞株の分化前後のcDNAもPCR鋳型として用いることにより、神経分化した細胞で発現するカドヘリンを絞り込むという工夫をしている。その結果、当初の目的どおり、神経発生後期に発現するマウスカドヘリン6全長のクローニングに初めて成功している。

つぎに申請者はこのカドヘリンの発現様式を、in situ ハイブリダイゼーション法により、初期発生から生後脳に至るまで詳細に解析している。その中で申請者は、脳の発生過程で重要なコンパートメントの代表例である rhombomere ユニットに対応してカドヘリン6が発現することを発見している。従来、多くの転写因子や液性因子が rhombomere に対応して発現することは報告されていたが、接着分子に関してはこれが初めてで、rhombomere ユニット間の細胞が互いに混じりあわないように、選択的接着能をもったカドヘリン分子群が機能している可能性を初めて示唆するものである。

また申請者は、胎児期脳におけるその他のコンパートメントや神経核、あるいは大脳皮質層形成過程に対応して、カドヘリン6が発現することを示している。すでに、他のカドヘリンサブクラスも隣接した領域で同様の発現をすることが示されており、カドヘリン分子群が脳の特異的な領域を規定するのに使われている可能性を、より確固たるものにしたといえる。

さらに申請者は、聴覚系神経回路を構成する一連の神経核および大脳皮質領野の神経細胞がすべてカドヘリン6陽性であることを見出している。この発見は、カドヘリン接着装置がシナプスに局在するという事実と併せて考えると、神経細胞が数多く存在する細胞の中から特定の標的だけを選び出し、特異的シナプス結合を形成する最終局面においてカドヘリン分子群が機能するという仮説を大きく支持するものであり、重要である。

その他にも申請者は、従来、カドヘリンを発現するとは考えられていなかった移動中の神経冠細胞、さらに、神経冠由来のシュワン細胞などに対応してカドヘリン6が発現することを報告している。これは神

神経冠細胞の中で、多様な分化形質をもった細胞群が、いかに区別されてゆくのかを理解する上で重要な発見である。また、移動中の神経冠細胞が発現する特有な遺伝子についてマウスに関しては報告が殆どなかったため、今後カドヘリン6が神経冠細胞のマーカーとしてこの分野の研究に大きく貢献することが期待される。

これに加え申請者は、カドヘリン6の発現様式がいかに制御されているかについても研究し、昆虫からヒトに至るまで遺伝子配列が保存されていて初期発生に必須の転写因子のひとつ *Hoxa-1* がその上流にある可能性を指摘している。*Hox* 遺伝子群の下流に関しては今まで殆ど知られておらず、接着分子カドヘリン6がその下流の候補のひとつとなったことで、発生機構の理解をさらに深める新たな概念を書き加えたといえる。

よって、申請論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認められる。

なお、主論文および参考文献に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、申請者の学識と研究能力を評価することができたので、合格と認めた。